



TITLE:

SDF2L1はERdj3の小胞体局在及び シャペロン活性を制御する(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

花房, 賢

CITATION:

花房, 賢. SDF2L1はERdj3の小胞体局在及びシャペロン活性を制御する.
京都大学, 2020, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22293>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; doi: 10.1074/jbc.RA119.009603. To post the final edited PDFs, created by ASBMB, to their own departmental/university websites, provided that the posting does not happen until 12 months after publication of the work in the Journal of Biological Chemistry, and that a link to the article in the Journal of Biological Chemistry is included.

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	花房 賢
論文題目	SDF2L1はERdj3の小胞体局在及びシャペロン活性を制御する		
(論文内容の要旨)			
<p>小胞体は、真核細胞内で最も大きな膜構造をもった細胞小器官である。タンパク質が生物学的機能をもつためには正しい高次構造を形成する必要がある。そのために、小胞体には分子シャペロンタンパク質が存在し、新タンパク質の正しい高次構造形成を効率よく行う機構が備わっており、タンパク質品質管理機構と呼ばれている。小胞体内にミスフォールドタンパク質が凝集蓄積すると細胞内のホメオスタシスが崩壊して、小胞体ストレス応答が誘導される。</p> <p>小胞体シャペロンタンパク質ERdj3は、ホモテトラマーを形成する小胞体内腔糖タンパク質であり、小胞体内腔で唯一のHSP70であるBiPと相互作用して小胞体内のホメオスタシスを維持している。小胞体ストレス応答の活性化によってERdj3の発現は誘導され、ミスフォールドタンパク質と共に細胞外に分泌される。</p> <p>SDF2 (Stromal cell-derived factor 2)はマウスの間質細胞で同定されたタンパク質で、その後にホモログであるSDF2L1 (Stromal cell-derived factor 2-like 1) が同定された。SDF2及びSDF2L1はBiPやERdj3、その他のフォールディング酵素からなるERシャペロン複合体と相互作用していることが報告されている。</p> <p>ERdj3は、小胞体残留シグナルを持たないにもかかわらず、非ストレス環境においては分泌が抑えられており、小胞体内でシャペロンとして機能している。このERdj3の小胞体内局在の制御機構は十分に解明されていない。また、細胞内でSDF2及びSDF2L1はERdj3と複合体を形成することは分かっているが、この複合体の機能は分かっていない。そこで、本研究では、ERdj3-SDF2L1複合体のミスフォールドタンパク質に対する機能を解析すること、及び非ストレス環境下におけるERdj3の小胞体局在メカニズムの解明をめざした。</p> <p>本研究は、SDF2L1と複合体を形成したERdj3の細胞内局在、及びシャペロン活性の解析を行った。細胞を用いた実験から、ERdj3はSDF2/SDF2L1と相互作用することによって小胞体に留まることを明らかにした。さらに、ERdj3が小胞体内で働くためには、SDF2L1と細胞内で複合体を形成し、小胞体に留まる必要があることも明らかにした。細胞を用いた実験及び、精製したリコンビナントタンパク質を用いた<i>in vitro</i>の実験から、ERdj3は単独で働くよりもSDF2L1と複合体を形成した方が、より強いミスフォールドタンパク質凝集抑制作用を示すことが明らかになった。ERdj3はホモテトラマーを形成することが報告されているが、ERdj3-SDF2L1複合体におけるERdj3はホモダイマーで存在し、そこにSDF2L1が2分子結合したヘテロテトラマーとして存在することが明らかにされた。また、SDF2L1タンパク質にアミノ酸変異を導入することによって、SDF2L1とERdj3の結合に重要なアミノ酸を明らかにした。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

分子シャペロンタンパク質は、新生タンパク質と相互作用することによってタンパク質の折り畳みを促進させ、タンパク質のミスフォールド及び凝集を抑制する。ERdj3は、HSP70シャペロンBiPが中心に働くBiPシャペロンサイクルを制御する。ERdj3は小胞体残留シグナルを欠損しており、小胞体ストレス環境下において細胞外に分泌され、細胞外でシャペロンとして機能することが知られている。しかしながら、その分泌がどのように制御されるのかについては明らかになっていない。また、ERdj3はstromal cell-derived factor 2 (SDF2)、及びSDF2L1 (SDF2-like protein 1)と複合体を形成する。しかしながら、ERdj3-SDF2L1複合体の機能は分かっていない。

本研究は、精製したタンパク質を用いた*in vitro*実験及び細胞を用いた実験から、以下の点を明らかにした。

1. ERdj3の小胞体局在にはSDF2およびSDF2L1が必要である。
2. ERdj3が小胞体においてシャペロンとして機能するためには、ERdj3がSDF2L1と細胞内で複合体を形成し、小胞体に留まる必要がある。
3. SDF2L1は複合体を形成することによって、ERdj3のシャペロン活性を亢進する。
4. ERdj3-SDF2L1複合体は、2分子のERdj3及び2分子のSDF2L1からなる。
5. SDF2L1における、ERdj3との結合部位を明らかにした。

ゴーシェ病の一因に、リソソームで働くグルコセレブロシダーゼ (GCCase) の変異があり、GCCase変異体のERADによる分解にERdj3が関わる事が報告されている。ERdj3が枯渇した細胞では、GCCase変異体が分解されることなくリソソームに輸送され、リソソームの機能が回復する。また、ミスフォールドタンパク質 α_1 -アンチトリプシンZ変異体は小胞体に蓄積凝集することが知られている。 α_1 -アンチトリプシンZ変異体の分解は、ERdj3の枯渇により促進される。その他にも、ERdj3は、アルツハイマー病の原因となるA β_{1-40} の不溶性繊維形成を抑制することや、細胞外でプリオン毒性を低下させる働きをもつ。本研究では、SDF2およびSDF2L1の枯渇により小胞体内のERdj3が著しく減少することが明らかになった。これはSDF2およびSDF2L1とERdj3の相互作用を制御することで、先述した疾患の治療ターゲットになり得る可能性を示唆している。SDF2L1によるERdj3のシャペロン活性および小胞体局在制御機構の解明は、先述した疾患の治療戦略に重要な知見を与えると考えられる。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和2年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降